

特 許 協 力 条 約

P C T

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

（法第 12 条、法施行規則第 56 条）

〔P C T 36 条及び P C T 規則 70〕

出願人又は代理人 の書類記号 AI010PCT	今後の手続きについては、様式 P C T / I P E A / 4 1 6 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 2 0 0 5 / 0 0 1 1 4 8	国際出願日 (日. 月. 年) 2 7 . 0 1 . 2 0 0 5	優先日 (日. 月. 年) 2 9 . 0 1 . 2 0 0 4
国際特許分類 (I P C) Int.Cl. C12N15/87(2006. 01), A61K48/00(2006. 01), C07K16/28(2006. 01)		
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人 産業技術総合研究所		

1. この報告書は、P C T 35 条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。 法施行規則第 57 条 (P C T 36 条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。
3. この報告には次の附属物件も添付されている。 a. <input checked="" type="checkbox"/> 附属書類は全部で 6 ページである。 <input checked="" type="checkbox"/> 補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙 (P C T 規則 70. 16 及び実施細則第 607 号参照) <input type="checkbox"/> 第 I 欄 4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙 b. <input type="checkbox"/> 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。 配列表に関する補充欄に示すように、電子形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。 (実施細則第 802 号参照)
4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 <input checked="" type="checkbox"/> 第 I 欄 国際予備審査報告の基礎 <input type="checkbox"/> 第 II 欄 優先権 <input type="checkbox"/> 第 III 欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 <input type="checkbox"/> 第 IV 欄 発明の単一性の欠如 <input checked="" type="checkbox"/> 第 V 欄 P C T 35 条 (2) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 <input type="checkbox"/> 第 VI 欄 ある種の引用文献 <input type="checkbox"/> 第 VII 欄 国際出願の不備 <input type="checkbox"/> 第 VIII 欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 3 1 . 1 0 . 2 0 0 5	国際予備審査報告を作成した日 0 5 . 0 6 . 2 0 0 6	
名称及びあて先 日本国特許庁 (I P E A / J P) 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8	4 B 9 4 5 5

様式 P C T / I P E A / 4 0 9 (表紙) (2 0 0 5 年 4 月)

第 I 欄 報告の基礎

1. 言語に関し、この予備審査報告は以下のものを基礎とした。

- ☒ 出願時の言語による国際出願
- ☐ 出願時の言語から次の目的のための言語である _____ 語に翻訳された、この国際出願の翻訳文
- ☐ 国際調査 (PCT規則12.3(a)及び23.1(b))
- ☐ 国際公開 (PCT規則12.4(a))
- ☐ 国際予備審査 (PCT規則55.2(a)又は55.3(a))

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1-78 _____ ページ、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ*、 _____ 付かで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ*、 _____ 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 (補充欄を参照) _____ 項、出願時に提出されたもの

第 _____ 項*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの

第 (補充欄を参照) _____ 項*、31.10.2005 付かで国際予備審査機関が受理したもの

第 (補充欄を参照) _____ 項*、24.02.2006 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第 1-14 _____ ページ/図、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ/図*、 _____ 付かで国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ/図*、 _____ 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☒ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ

☒ 請求の範囲 第 (補充欄を参照) _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

☐ 明細書 第 _____ ページ

☐ 請求の範囲 第 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること) _____

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること) _____

* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第Ⅴ欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第 12 条（PCT 35 条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲 1, 5-9, 12-28, 30, 32-36, 38-45, 47, 51-53	有
	請求の範囲 _____	無
進歩性 (I S)	請求の範囲 _____	有
	請求の範囲 1, 5-9, 12-28, 30, 32-36, 38-45, 47, 51-53	無
産業上の利用可能性 (I A)	請求の範囲 1, 5-9, 12-28, 30, 32-36, 38-45, 47, 51-53	有
	請求の範囲 _____	無

2. 文献及び説明 (PCT 規則 70.7)

- 文献 1 : WO 2000/01836 A1 (TAKARA SHUZO CO.) 2000.01.13
- 文献 2 : WO 2002/018609 A2 (VIRXSYS) 2002.03.07
- 文献 3 : WO 2003/000297 A1 (SUMITOMO PHARMA.) 2003.01.03
- 文献 4 : WO 1997/011604 A1 (INDIANA UNIVERSITY FOUNDATION) 1997.04.03
- 文献 5 : AOKI Y., et al, Potential tumor-targeting peptide vector of histidylated oligolysine conjugated to a tumor-homing RGD motif, Cancer Gene Ther., 2001, Vol.8, No.10, pages 783 to 787
- 文献 6 : HARBOTTLE R.P., et al, An RGD-oligolysine peptide: a prototype construct for integrin-mediated gene delivery, Hum. Gene Ther., 1998, Vol.9, No.7, pages 1037 to 1047
- 文献 7 : FORTUNATI E., et al, A multi-domain protein for $\beta 1$ integrin-targeted DNA delivery, Gene Ther., 2000, Vol.7, No.17, pages 1505 to 1515
- 文献 8 : KUNATH K., et al, Integrin targeting using RGD-PEI conjugates for in vitro gene transfer, J. Gene Med., 2003, Vol.5, No.7, pages 588 to 599
- 文献 9 : SCHNEIDER H., et al, Targeted gene delivery into $\alpha 0 \beta 1$ -integrin-displaying cells by synthetic peptide, FEBS Lett., 1999, Vol.458, No.3, pages 329 to 332
- 文献 10 : MIYAKE M. et al., Transfection Array technology and the application for post-genetic research, Natl. Inst. Radiol. Sci., 2003, No.168, pages 169 to 174
- 文献 11 : Polymer Reprint, Japan, 2003, Vol.52, pages 3846 to 3847
- 文献 12 : MOUSSES S. et al., RNAi microarray analysis in cultured mammalian cells, Genome Res., 2003, Vol.13, No.10, pages 2341 to 2347
- 文献 13 : WO 2001/020015 A1 (WHITEHEAD INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH) 2001.03.22

(補充欄に続く)

配列表に関する補充欄

第 I 欄 2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。

- a. タイプ ☒ 配列表
☐ 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット ☐ 紙形式
☒ 電子形式
- c. 提出時期 ☒ 出願時の国際出願に含まれていたもの
☐ この国際出願と共に電子形式により提出されたもの
☐ 出願後に、調査又は審査のために、この国際機関に提出されたもの
☐ _____ 付けで、この国際予備審査機関が補正*として受理したもの

2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

*第 I 欄 4. に該当する場合、国際予備審査報告書の基礎となる配列表又は配列表に関連するテーブルに “superseded” と記入されることがある。

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 I 欄の続き

2. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。

請求の範囲

第 7-9, 12, 16, 19-23, 27, 28, 32, 35, 36, 39-41, 44, 45, 52, 53 項、
出願時に提出されたもの

第 5, 6, 13-15, 17, 18, 26, 30, 34, 38, 43, 47 項、
31. 10. 2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの

第 1, 24, 25, 33, 42, 51 項、
24. 02. 2006 付けで国際予備審査機関が受理したもの

3. 補正により、下記の書類が削除された。

請求の範囲 第 2-4, 10, 11, 29, 31, 37, 46, 48-50, 54 項

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

請求の範囲 1, 5-9, 12-28, 30, 32-36, 38-45, 47, 51-53 について

文献 1 には、レトロウイルスによる標的細胞への遺伝子導入において、標的細胞結合活性を有する物質として、細胞を特異的に認識する抗体やラミニン等を使用することにより遺伝子導入効率を向上させ、標的細胞の形質転換を効率よく行う遺伝子導入方法が記載されている。特に、実施例 4 には、ラミニンの遺伝子導入効率増強効果について、また、実施例 10 には、抗-CD49 等の抗体を用いた細胞選択的な遺伝子導入が具体的に記載されている。

文献 2 には、ウイルスベクターを使用する細胞の効率的な形質導入にいて、その形質導入の効率は、形質導入されるべき細胞をその細胞表面を結合する 1 以上の分子と接触させることによって増大されることが記載されている。形質導入される細胞の表面に結合する少なくとも 1 つの分子としては、この細胞の表面上のレセプター、マーカー、又は他の認識可能部分と物理的に相互作用する任意の分子が挙げられるとして、CD29、CD49a～f も具体的に記載されている。

文献 3 には、インテグリンのリガンドとして公知であるコラーゲン又はコラーゲン誘導体と所望の核酸とを含む複合体を使用して、所望の核酸を効率的に細胞に導入するための手段が記載されている。

文献 4 には、フィブロネクチン又はフィブロネクチンフラグメントの存在下でレトロウイルスに細胞を感染させる、レトロウイルスによる細胞の形質転換効率を増加させる方法が記載されている。

そして、国際調査報告書では引用されていない、新たに引用する文献 5 乃至 9 には、RGD 等の配列を含み、インテグリンと相互作用するペプチド分子は、核酸分子の細胞への導入効率を向上させることが記載されている。ところで、明細書段落番号 [0025] には、「インテグリン」と「インテグリンレセプター」とは互換可能に用いられると定義されている。また、段落番号 [0026] には、「インテグリンは、RGD 分子であり得る。」とも明記されている。してみると、RGD を含むようなインテグリンと相互作用するものは、インテグリンレセプターと相互作用するともいえることになる。

さらに、国際調査報告書では引用されていない、新たに引用する文献 10 乃至 13 のうち、本願発明者らによる文献 10 の第 170 頁右欄第 7～9 行には、「固相系トランスフェクションは、従来法に比べて、特に遺伝子導入が困難な細胞における導入遺伝子の発現効率が高いという特徴がある。」と明記されている。なお、当該技術的特徴点については、出願人は、2006.02.24 日付け提出の答弁書において、本願優先日後に公知となった文献を挙げて説明するのみである。また、文献 11 乃至 13 の記載から理解できるとおり、固相上での遺伝子（核酸）導入手法、いわゆる逆トランスフェクション法は、当業者には周知技術にすぎない。

したがって、文献 1 に記載されているような公知の抗 CD49 抗体も含めて、そのような物質を用いて、すでに当業者にはよく知られていた前記「固相系トランスフェクション」を採用し、細胞への核酸の導入効率を上昇させることを目的とする本願発明は、文献 1 乃至 13 における記載から、当該技術分野の専門家が容易になし得たものである。

79 / 1

を含む、請求項1に記載の組成物。

- [17] (補正後)前記インテグリンレセプターは、前記細胞に特異的に発現される、請求項1に記載の組成物。

請求の範囲

- [1] (補正後)細胞接着関連因子を含む、固相上での標的物質の細胞への導入効率を上昇させるための組成物であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含み、該標的物質は、核酸分子を含む、組成物。
- [2]
- [3]
- [4]
- [5] 前記インテグリンレセプターは、RGD分子を含む、請求項1に記載の組成物。
- [6] 前記相互作用物質は、前記インテグリンレセプターのパートナーと抗原抗体反応する、請求項1に記載の組成物。
- [7] 前記相互作用物質は、抗体またはその誘導体である、請求項1に記載の組成物。
- [8] 前記相互作用物質は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体である、請求項1に記載の組成物。
- [9] 前記相互作用物質は、抗CD49a抗体、抗CD49b抗体、抗CD49c抗体、抗CD49e抗体および抗CD49f抗体からなる群より選択される抗体を含む、請求項1に記載の組成物。
- [10]
- [11]
- [12] 前記標的物質は、DNAを含む、請求項1に記載の組成物。
- [13] 前記インテグリンレセプターは、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、ならびにCD29からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。
- [14] 前記インテグリンレセプターは、CD29、CD49a、CD49c、CD49d、CD49eおよびCD49fからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。
- [15] 前記インテグリンレセプターは、コラーゲン、フィブロネクチン、ビトロネクチンおよびラミニンからなる群より選択される分子と相互作用する、請求項1に記載の組成物。
- [16] 前記細胞は、幹細胞および分化細胞からなる群より選択される少なくとも1つの細胞

- [18] さらに遺伝子導入試薬を含む、請求項1に記載の組成物。
- [19] 前記遺伝子導入試薬は、カチオン性高分子、カチオン性脂質およびリン酸カルシウムからなる群より選択される、請求項18に記載の組成物。
- [20] さらに、粒子を含む、請求項1に記載の組成物。
- [21] 前記粒子は、金コロイドを含む、請求項20に記載の組成物。
- [22] さらに、塩を含む、請求項1に記載の組成物。
- [23] 前記塩は、緩衝剤に含まれる塩類および培地に含まれる塩類からなる群より選択される、請求項22に記載の組成物。
- [24] (補正後) 固相上での遺伝子導入効率を上昇させるためのキットであって、
(a) 細胞接着関連因子であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含む、細胞接着関連因子; および
(b) 遺伝子導入試薬、
を備える、キット。
- [25] (補正後) 固相上での標的物質を細胞内へ導入するための組成物であって、
A) 標的物質であって、該標的物質は、核酸分子を含む、標的物質、および
B) 細胞接着関連因子であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含む、細胞接着関連因子、
を含む、組成物。
- [26] 前記標的物質は、DNA、RNAおよびこれらの複合体からなる群より選択される物質を含む、請求項25に記載の組成物。
- [27] 前記標的物質は、トランスフェクトされるべき遺伝子配列をコードするDNAを含む、請求項25に記載の組成物。
- [28] さらに、遺伝子導入試薬を含む、請求項25に記載の組成物。
- [29]
- [30] 前記細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターの抗体を含む、請求項25に記載の組成物。
- [31] (削除)
- [32] 固相として存在する、請求項25に記載の組成物。

- [33] (補正後) 固相上での標的物質の細胞への導入効率を上昇させるためのデバイスであって、
- A) 標的物質であって、該標的物質は、核酸分子を含む、標的物質; および
- B) 細胞接着関連因子であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含む、細胞接着関連因子、
- を含み、該細胞接着関連因子が、支持体に固定された、デバイス。
- [34] 前記標的物質は、DNA、RNA およびこれらの複合体からなる群より選択される物質を含む、請求項33に記載のデバイス。
- [35] 前記標的物質は、遺伝子発現することを目的とする遺伝子配列をコードするDNAを含む、請求項33に記載のデバイス。
- [36] 遺伝子導入試薬をさらに含む、請求項33に記載のデバイス。
- [37]
- [38] 前記細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターの抗体を含む、請求項36に記載のデバイス。
- [39] 前記支持体は、プレート、マイクロウェルプレート、チップ、スライドガラス、フィルム、ビーズおよび金属からなる群より選択される、請求項36に記載のデバイス。
- [40] 前記支持体は、コーティング剤でコーティングされる、請求項36に記載のデバイス。
- [41] 前記コーティング剤は、ポリ-L-リジン、シラン、MAS、疎水性フッ素樹脂および金属からなる群より選択される物質を含む、請求項40に記載のデバイス。
- [42] (補正後) 固相上での標的物質の細胞への導入効率を上昇させるための方法であって、
- A) 固相上で標的物質を提供する工程であって、該標的物質は、核酸分子を含む、工程;
- B) 該固相上で細胞接着関連因子を提供する工程であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含む、工程;
- C) 該固相上で該標的物質および該細胞接着関連因子を該細胞に接触させる工程、
- を包含する、方法。

- [43] 前記標的物質は、DNA、RNAおよびこれらの複合体からなる群より選択される物質を含む、請求項42に記載の方法。
- [44] 前記標的物質は、トランスフェクトされるべき遺伝子配列をコードするDNAを含む、請求項43に記載の方法。
- [45] 遺伝子導入試薬を提供する工程をさらに包含し、該遺伝子導入試薬は、前記細胞

に接触される、請求項42に記載の方法。

[46]

[47] 前記細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターの抗体を含む、請求項42に記載の方法。

[48]

[49] (削除)

[50] (削除)

[51] (補正後) 固相上での標的物質の細胞への導入効率を上昇させるための方法であって、

I) A) 標的物質であって、該標的物質は、核酸分子を含む、標的物質と

B) 細胞接着関連分子であって、該細胞接着関連因子は、インテグリンレセプターと相互作用する相互作用物質を含む、細胞接着関連因子と
を支持体に固定する工程;および

II) 該支持体上の該組成物に細胞を接触させる工程、
を包含する、方法。

[52] 遺伝子導入試薬を提供する工程をさらに包含し、該遺伝子導入試薬は、前記細胞に接触される、請求項51に記載の方法。

[53] 前記遺伝子導入試薬の提供後に、前記標的物質と該遺伝子導入との複合体を形成する工程をさらに包含し、その後、前記細胞接着関連因子が提供されることを特徴とする、請求項52に記載の方法。

[54]